氧化应激、能量代谢与中国男性精子质量的关联性研究

赵晓龙，牛治平，谭继，等. 氧化应激、能量代谢与中国男性精子质量的关联性研究［J］. 中国全科医学，2022. ［Epub ahead of print］. DOI：10.12114/j.issn.1007-9572.2022.0779.

赵晓龙[1†]，牛治平[1†]，谭继东[2]，韩东晖[1]，杨发[1]，温伟红[3]，王安辉[4*]，秦卫军[1*]

基金项目：国家自然科学基金(项目编号：81772734 号)

1．710032 陕西省西安市，空军军医大学西京医院泌尿外科
2．721006 陕西省宝鸡市，中国人民解放军 96607 部队医院外科
3．710072 陕西省西安市，西北工业大学医学研究院
4．710032 陕西省西安市，空军军医大学预防医学系流行病学教研室
†贡献相等，为本文共同第一作者。

*通信作者：秦卫军，教授，博士生导师；E-mail：qinwj@fmmu.edu.cn

王安辉，副教授，硕士生导师；E-mail：wangah@fmmu.edu.cn

【摘要】　背景　氧化应激和能量代谢是影响男/雄性个体精子质量的重要因素。但现有研究多为动物实验，缺少人群证据，并且以往研究多侧重于探究氧化应激和能量代谢对精子密度和活动力的影响，缺乏对精子运动速度和轨迹方面的研究。**目的**　研究氧化应激和能量代谢相关生物学指标与男性精子密度、活动力、运动速度和运动轨迹等各参数之间的关系，为男性生殖健康的精准干预提供流行病学证据。**方法**　2021 年 6 月-12 月在西京医院生殖医学中心招募 109 名志愿者，采集其精液样本，并应用计算机辅助精子分析系统（CASA）检测精子密度、活动力、运动速度和运动轨迹等 10 余项参数。检测精液样本中丙二醛(MDA)、还原型谷胱甘肽(GSH)反应氧化应激水平，检测三磷酸腺苷(ATP)的水平评估能量代谢水平。应用广义线性模型(GLM)评估氧化应激指标(MDA、GSH)和能量代谢指标(ATP)与精子质量各参数之间的关联。**结果**　共有 67 份精子样本用于检测氧化应激水平，42 份精子样本用于评估能量代谢水平。GLM 分析表明，MDA、GSH 和 ATP 水平均与精子的活动力、运动速度和运动轨迹等多项参数有关，而与精子密度之间没有显著关联。**结论**　较高的氧化应激水平和较低的能量代谢水平与男性精子活动力降低、运动速度减慢以及精子轨迹不良改变有关。本研究为应用降低氧化应激和提高能量代谢的补充剂改善男性精子质量提供了依据。
【关键词】　精子质量；氧化应激；能量代谢；男性生殖健康

Association between oxidative stress, energy metabolism and sperm quality of Chinese male adults

ZHAO Xiaolong[1†], NIU Zhiping[1†], TAN Jidong[2], HAN Donghui[1], YANG Fa[1], WEN Weihong[3], WANG Anhui[4*], QIN Weijun[1*]
[1] Department of Urology, Xijing Hospital, Air Force Military Medical University, Xi'an 710032, China
[2] Department of Surgery, 96607 Army Hospital of People’s Liberation Army, Baoji 721006, China
[3] Institute of Medical Research, Northwestern Polytechnical University, Xi'an 710072, China
[4] Department of Epidemiology, School of Preventive Medicine, Air Force military Medical University, Xi'an 710032, China
[†]These authors contributed equally to this work.
*Corresponding authors: QIN Weijun, Professor, Doctoral supervisor; E-mail: qinwj@fmmu.edu.cn
WANG Anhui, Associate professor, Master supervisor; E-mail: wangah@fmmu.edu.cn

【Abstract】　Background Oxidative stress and energy metabolism are important factors that affect sperm quality in male individuals. However, majority of former studies were based on animal models rather than human. Besides, previous studies paid more attention to the effects on sperm concentration and motility. The relationship between sperm motility velocity or

trajectory and these two factors remains unknown. **Objective** To investigate the effects of biological indicators related to oxidative stress and energy metabolism on sperm concentration, motility, movement velocity and trajectory. Thus, to provide epidemiological evidence for precise intervention of male reproductive health problems. **Methods** The semen samples were collected from the Reproductive Medicine Center of Xijing Hospital from June to December 2021. More than 10 parameters such as sperm concentration, motility, velocity and trajectory were measured by computer-aided sperm analysis system (CASA). The levels of malondialdehyde (MDA), reduced glutathione (GSH) and adenosine triphosphate (ATP) were also detected correspondingly. Finally, generalized linear model (GLM) was used to evaluate the correlation between oxidative stress indicator (MDA, GSH) or energy metabolism indicator (ATP) and sperm quality parameters. **Results** A total of 67 sperm samples were used to examine oxidative stress level, and 42 sperm samples were employed to assess ATP level. GLM analysis indicated that MDA, GSH, and ATP levels were all associated with motility, velocity, and trajectory of sperm, whereas no significant correlation among sperm concentration and these indicators. **Conclusion** Higher level of oxidative stress and lower level of energy metabolism are associated with lower motility, lower velocity of movements, and adverse change in sperm trajectory. Thus, our study proves that applying supplements that can reduce oxidative stress and increase energy metabolism could benefit sperm quality.

【**Keywords**】Sperm quality; Oxidative stress; Energy metabolism; Male reproductive health

前言

精子质量下降已经成为影响全球成年男性生殖健康的严重问题[1-5]。根据最近的一项 Meta 分析，在过去的 40 年里，全球成年男性平均精子数量和精子密度分别下降了 60%和 52%，而且这一下降趋势仍在继续[2]。除了精子数量和密度快速下降外，精子活力的迅速下降使得男性生殖健康问题更加严重[6]。例如，一项队列研究收集了 489 名成年男性的 9425 份精液样本，结果发现精子总活力和活动总数显著下降[6]。鉴于男性生殖健康问题日益严重，探讨其危险因素及其生物学机制具有重要意义[1]。

虽然精子质量下降的具体生物学机制尚未被阐明[7]，氧化应激和能量代谢可能是主要的机制[8-10]。有研究表明，氧化应激升高和能量代谢降低与精子质量下降显著相关[11-13]。例如，一项病例对照研究招募了 79 名畸形精子症患者和 56 名健康者，发现畸形精子症患者精浆的氧化应激水平显著高于健康男性[12]。氧化应激导致的精子损伤是 30%-80%的不育男性的主要原因[14]。同时，能量代谢在精子生成和精子运动中起着关键作用[15]。例如，一项应用维生素 D 干预的研究表明，较高水平的三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)与精子前向运动率的增加显著相关[16]，这可能是通过改善精子线粒体氧化呼吸链的功能状态来发挥作用的。然而，这些研究主要是多基于动物实验研究，缺乏来自于人群的流行病学证据，而且氧化应激和能量代谢主要影响精子质量的哪些具体参数仍不清楚。

因此，我们开展了一项横断面研究，系统评估氧化应激和能量代谢水平对男性精子质量各个参数的影响，识别氧化应激和能量代谢水平主要引起精子的哪些参数的改变。

1　资料与方法

1.1　研究对象和精液样本采集

在 2021 年 6 月-12 月在西京医院生殖医学中心进行精液质量检查的就医者中招募志愿者。每位志愿者被要求完成简易的调查问卷，包括出生年月、学历、身高、体重、是否吸烟（吸烟者定义为每天吸烟 1 支及以上，连续或累积 6 个月）和是否饮酒（饮酒者定义为平均每周饮酒 1 次及以上）等情况[17]。同时在禁欲 3-7 天后，通过手淫的方法在无菌的广口精液收集瓶中采集精液样本，精液样本保存在 37℃的恒温箱中，并在精液样本完全液化后立即进行精子质量分析和氧化应激、能量代谢标志物的检测。研究对象的纳入标准为 2021 年 6 月至 12 月在西京医院生殖医学中心进行孕前检查精液质量的初诊男性，年龄在 18-50 岁之间，自愿参加本次调查研究的志愿者。排除标准为隐睾、患有精索静脉曲张、未治愈的生殖系统感染或既往诊断为无精症的患者。共有 109 名成年男性完成了我们的调查研究。

本研究由西京医院医学伦理委员会批准(代码：KY20223104-TEMP)，并在研究前取得所有参与者的知情同意。

1.2　精子质量分析

精子质量分析按照《人类精液检验与处理实验室手册》第 5 版进行。采集的精液标本由专业的检验师首先观察精液样本的精液量、颜色、粘度和液化情况，并将其登记在电子系统中。待精液完全液化后，将每个受试者的精液标本取 3μl 置于一次性精子检测板上(赛斯医疗技术北京有限公司)，使用计算机辅助精子分析系统(computer aided sperm analysis system, CASA)(赛斯医疗，SAS)和 SASII®2.3 版本软件评估精子密度、活动力、运动速度和运动轨迹等一系列特定参数，如曲线速度、侧摆幅值和摆动频率，CASA 系统检测精子多项运动参数示意图见图 1。

为确保精子质量检测结果的可靠性，本研究所有精子质量检测工作均在同一精子质量分析仪上完成。该精子质

量分析仪已通过西北生殖医学专科联盟精子分析室间质量控制评估，为合格在控状态。本研究期间，所有精子质量检测由同一检验技师完成，避免人员误差。此外，本研究所采用的精子质量分析仪每月使用标准浓度玻璃粉校准浓度，使用视频进行精子活力分析的质量控制，并将 CASA 系统的结果与人工方法进行比较进行误差分析，研究期间该研究所采用的精子质量分析仪均符合误差要求。

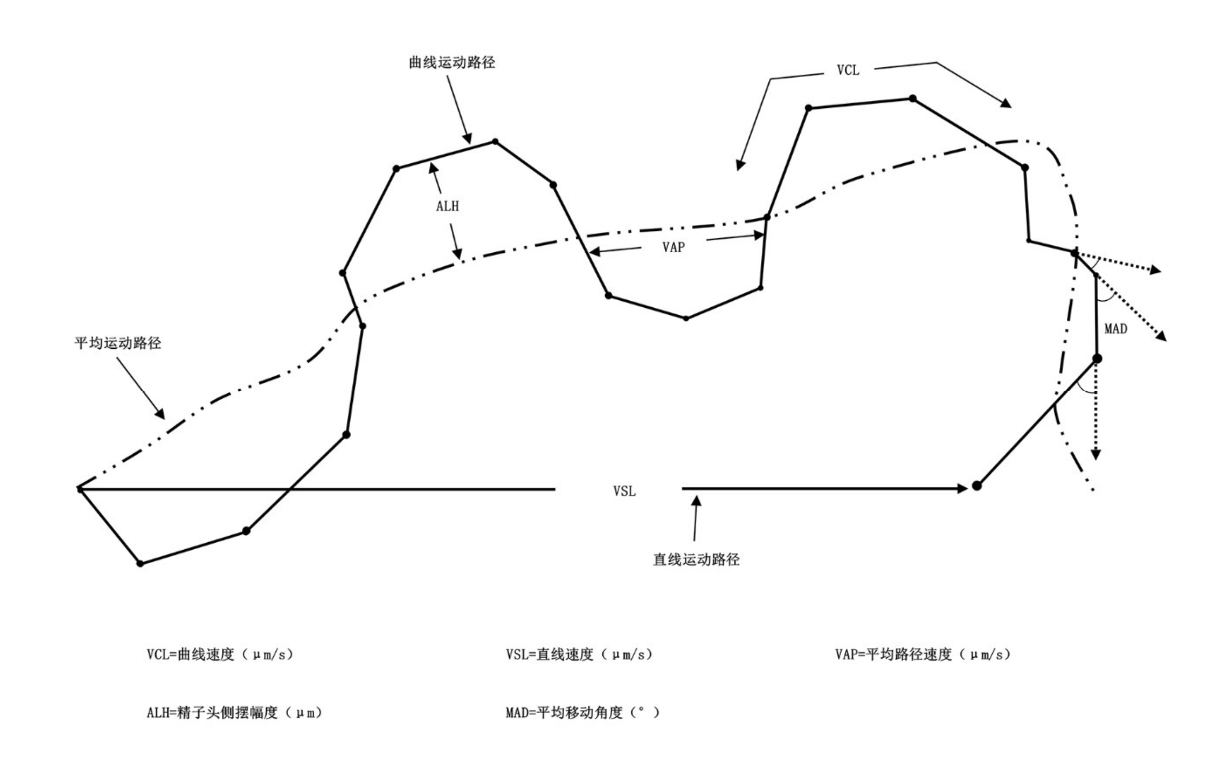


图 1　CASA 系统检测精子多项运动参数示意图

Figure 1　Schematic diagram of the CASA system for detecting multiple sperm movement parameters

1.3　氧化应激和能量代谢评估

本研究通过检测精浆标本中的丙二醛(malondialdehyde, MDA)和还原型谷胱甘肽(reduced glutathione, GSH) 反映氧化应激水平。MDA 是多不饱和脂肪酸过氧化最常见的产物之一，已被广泛用于评估氧化应激的水平[18]，并可被认为是精浆脂质过氧化的直接指标[19]，较高水平的 MDA 代表较高的氧化应激水平。而 GSH 是保护脂质、蛋白质和核酸免受氧化损伤的非酶抗氧化防御系统的一部分[20]。GSH 水平越高，表明抗氧化水平越高，氧化应激水平越低。本研究使用的 MDA 试剂盒(#BC0025，Solarbio，北京)、GSH 试剂盒(#BC1175，Solarbio，北京)对采集的精液标本的氧化应激水平进行检测。精液质量分析的剩余精液样本在室温下 800g 离心 15 分钟后，取精液上清液 2ml EP 管。然后 10000g 离心 30 分钟，取上清，精浆样品分成几个等量的部分，严格按照 MDA 和 GSH 试剂盒步骤测定精浆 MDA 和 GSH。

本研究通过检测精液标本中的 ATP 反映能量代谢水平。ATP 水平越高，表明精液标本用于精子运动和结合的能量供应越好。研究采用增强型 ATP 分析试剂盒(#S0027，Beyotime，上海)进行检测。将 2ml 50%Percoll 溶液加入 15ml 离心管中，沉淀用 2mL 磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution, PBS)重悬，然后在室温下 1000g 离心 20 分钟。去掉上清液后，加入 2ml PBS 洗涤 1 次，获得的最终沉淀物立即用于评估精液 ATP 水平。

因单次可采集的精液量有限，并且精液标本放置时间过程或冻融均会影响精液标本氧化应激和能量代谢水平的准确性，本研究将采集到的精液标本分为两部分，分别检测精液中氧化应激标志物（MDA 和 GSH）和能量代谢标志物（ATP）的表达水平。

1.4　统计分析

首先对所有变量进行统计描述。对于连续性变量，如果服从正态分布，采用均数±标准差进行统计描述，如果服从偏态分布采用中位数（四分位数间距）表示。分类变量采用频数（百分比）进行统计描述。接下来应用广义线性模型(generalized linear model, GLM)来评估 MDA、GSH 和 ATP 与精子质量各项参数之间的关系。效应值表示为 MDA 每增加 1nmol/ml、GSH 每增加 10μg/ml、ATP 水平每增加 1nmol/mg 蛋白，男性精子质量各项参数的改变及 95%置信区间（95%CI）。

为了调整潜在的混杂因素并检验结果的稳健性程度，本研究统计模型包括粗模型和调整模型。首先在没有纳入

任何协变量的情况下进行 GLM 模型拟合(粗模型)。然后，将研究采集的精液量、研究对象的年龄、身体质量指数（body mass index, BMI）、受教育程度、吸烟和饮酒状况作为协变量纳入模型（调整模型）。

统计分析采用 R 软件(4.1.2 版)，双侧 $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 描述性统计

本研究共纳入 109 名成年男性。参与者及其精液样本被分成两组（氧化应激、能量代谢组）。67 份精液样本用于检测 MDA、GSH 与精子质量各参数的关系，42 份精液样本用于评估 ATP 对精子质量各参数的影响。氧化应激组受试者平均年龄为 30.04 ± 4.29 岁，MDA 含量为 2.78 (1.69) nmol/ml，GSH 含量为 113.54 (74.21) µg/ml。能量代谢组平均年龄 32.33 ± 5.24 岁，ATP 含量为 6.61 (2.26) nmol/mg 蛋白。详情如表 1 所示。

表 1 研究对象基本特征、氧化应激、能量代谢和精子质量参数的统计描述

Table 1 Statistical description of basic demographics, oxidative stress, energy metabolism and sperm quality parameters

结果	MDA 和 GSH 组（n=67）	ATP 组（n=42）
基本特征		
年龄（年）[a]	30.04±4.29	32.33±5.24
BMI (kg/m^2)[a]	23.96±3.08	23.69±2.77
受教育程度 [b]		
-高中及以下	41 (61.2%)	27 (64.3%)
-大专及以上	26 (38.8%)	15 (35.7%)
吸烟状况 [b]		
-吸烟	26 (38.8%)	10 (23.8%)
-不吸烟	41 (61.2%)	32 (76.2%)
饮酒状况 [b]		
-饮酒	24 (35.8%)	12 (28.6%)
-不饮酒	43 (64.2%)	30 (71.4%)
氧化应激 [a]		
MDA (nmol/ml)	2.78 (1.69)	-
GSH (µg/ml）	113.54 (74.21)	-
能量代谢 [a]		
ATP (nmol/mg 蛋白)	-	6.61 (2.26)
精液量（ml）[a]	3.50 (0.30)	3.35 (1.05)
精子密度 [a]		
精子密度(×10^6/ml)	58.58 (104.14)	41.16 (63.84)
直线运动精子密度(×10^6/ml)	15.59 (24.13)	8.66 (16.92)
精子活动力 [a]		
前向运动率(%)	39.77±19.89	33.55 (38.19)
非前向运动率(%)	12.20±6.03	10.03 (6.87)
精子总活力(%)	51.97±23.24	40.90 (47.86)
运动速度 [a]		
曲线速度(µm/s)	36.02 (25.54)	26.55 (26.95)
直线速度(µm/s)	15.55 (11.27)	13.12 (16.21)
平均路径速度(µm/s)	19.87 (10.69)	15.65 (17.69)
运动轨迹 [a]		
平均侧摆幅值(µm)	2.30±0.27	2.58±0.47
平均鞭打频率(Hz)	9.93 (7.19)	7.97 (8.84)
平均移动角度(°)	14.28±4.35	13.26±5.12
运动的直线性(%)	39.99±7.76	26.33±19.06
运动的摆动性(%)	51.99±6.21	58.29±11.22
运动的前向性(%)	77.02 (7.03)	80.96 (13.35)

注：[a] 连续性变量，如果服从正态分布，采用均数±标准差进行统计描述，如果服从偏态分布采用中位数（四分位数间距）；[b] 分类变量，采用频率（百分比）表示。

2.2　氧化应激与精子质量各参数的关系

对于 MDA 水平与精子质量各参数的关系详见表 2。在调整了研究对象的年龄、学历、BMI、吸烟、饮酒和精液量差异后，在精子密度方面，MDA 每增加 1nmol/ml，直线运动精子密度下降 5.05×10^6/ml（95%CI: 10.04×10^6，0.06×10^6）；在精子活动力方面，MDA 每增加 1nmol/ml，精子总活力下降 6.72% (95%CI: 10.50%，2.94%)、前向运动率（progressive motility, PR）下降 5.37 % (95%CI：8.65%，2.08%)和非前向运动率（non-progressive motility, NP）下降 1.35 % (95%CI：2.36%，0.35%)；在精子运动速度方面，我们发现 MDA 每增加 1nmol/ml，曲线速度下降 5.39 μm/s (95%CI：8.31，2.47)，直线速度下降 2.38 μm/s (95%CI：3.83，0.92)，平均路径速度下降 2.98 μm/s (95%CI：4.70, 1.25)；此外，精子运动轨迹的一些参数也发生了显著变化，MDA 每增加 1nmol/ml，精子平均侧摆幅值下降 0.05 μm (95%CI：0.09，0.00)，平均鞭打频率下降 1.49 Hz (95%CI：2.35，0.63)、平均移动角度下降 1.34 ° (95%CI：2.04°，0.67°)，运动的直线性下降 1.34 % (95%CI：2.63%，0.06%)，运动的摆动性下降 1.07%　(95%CI：2.10%，0.05%)，运动的前向性下降 1.55% (95%CI：2.69%，0.42%)。

表 2　精浆中 MDA 水平与精子浓度、活动力、运动速度和运动轨迹的关联

Table 2　Correlation between MDA in seminal plasma and sperm concentration, motility, movement velocity and trajectory

精子质量参数	粗模型		调整模型	
	β 和 95%CI	P 值	β 和 95%CI	P 值
精子密度				
精子密度($\times10^6$/ml)	-9.36 (-20.63, 1.91)	0.108	-10.74 (-22.94, 1.46)	0.083
直线运动精子密度($\times10^6$/ml)	-4.58 (-9.12, -0.04)	0.052	-5.05 (-10.04, -0.06)	0.047*
精子活动力				
前向运动率(%)	-5.38 (-8.33, -2.43)	<0.001***	-5.37 (-8.65, -2.08)	0.002**
非前向运动率(%)	-1.51 (-2.42, -0.59)	0.002**	-1.35 (-2.36, -0.35)	0.009**
精子总活力(%)	-6.89 (-10.26, -3.51)	<0.001***	-6.72 (-10.50, -2.94)	<0.001***
精子运动速度				
曲线速度(μm/s)	-5.68 (-8.33, -3.03)	<0.001***	-5.39 (-8.31, -2.47)	<0.001***
直线速度(μm/s)	-2.52 (-3.82, -1.21)	<0.001***	-2.38 (-3.83, -0.92)	0.002**
平均路径速度(μm/s)	-3.15 (-4.70, -1.59)	<0.001***	-2.98 (-4.70, -1.25)	0.001**
精子运动轨迹				
平均侧摆幅值(μm)	-0.05 (-0.09, -0.01)	0.018*	-0.05 (-0.09, 0.00)	0.041*
平均鞭打频率(Hz)	-1.57 (-2.35, -0.80)	<0.001***	-1.49 (-2.35, -0.63)	0.001**
平均移动角度(°)	-1.37 (-1.99, -0.74)	<0.001***	-1.34 (-2.04, -0.65)	<0.001***
运动的直线性(%)	-1.47 (-2.67, -0.28)	0.018*	-1.34 (-2.63, -0.06)	0.041*
运动的摆动性(%)	-1.18 (-2.13, -0.23)	0.018*	-1.07 (-2.10, -0.05)	0.041*
运动的前向性(%)	-1.65 (-2.71, -0.58)	0.004**	-1.55 (-2.69, -0.42)	0.008**

注：较高水平的 MDA 代表较高的氧化应激水平。

研究还发现，GSH 水平与直线运动精子密度、精子活动力、运动速度和运动轨迹等多项参数存在关联。GSH 每增加 10 μg/ml，直线运动精子密度上升 1.77×10^6/ml (95%CI：0.27×10^6，3.28×10^6)、精子总活力升高 1.70% (95%CI：0.51%，2.90%)、PR 升高 1.44% (95%CI：0.42%，2.47%)。在精子运动速度方面，GSH 每增加 10 μg/ml，精子曲线速度增加 0.90 μm/s (95%CI：-0.07，1.86)、直线速度增加 0.53 μm/s (95%CI：0.06，0.99)，平均路径速度增加 0.60 μm/s (95%CI：0.04，1.16)。此外，GSH 水平还与精子运动轨迹的一些参数相关，如平均侧摆幅值、平均鞭打频率、平均移动角度、运动的直线性、摆动性和前向性。GSH 水平与精子质量各项参数的关系详见表 3。

表 3　精浆中 GSH 水平与精子浓度、活动力、运动速度和运动轨迹的关联

Table 3　Correlation between GSH in seminal plasma and sperm concentration, motility, movement velocity and trajectory

精子质量参数	粗模型		调整模型	
	β 和 95%CI	P 值	β 和 95%CI	P 值
精子密度				
精子密度(×10⁶/ml)	3.69 (0.39, 6.99)	0.032*	3.59 (-0.13, 7.30)	0.058
直线运动精子密度(×10⁶/ml)	1.67 (0.35, 3.00)	0.016*	1.77 (0.27, 3.28)	0.022*
精子活动力				
前向运动率(%)	1.34 (0.43, 2.24)	0.004**	1.44 (0.42, 2.47)	0.007**
非前向运动率(%)	0.27 (-0.02, 0.55)	0.068	0.26 (-0.06, 0.58)	0.110
精子总活力(%)	1.60 (0.55, 2.65)	0.004**	1.70 (0.51, 2.90)	0.006**
精子运动速度				
曲线速度(μm/s)	0.82 (-0.03, 1.67)	0.064	0.90 (-0.07, 1.86)	0.068
直线速度(μm/s)	0.50 (0.09, 0.91)	0.021*	0.53 (0.06, 0.99)	0.026*
平均路径速度(μm/s)	0.54 (0.05, 1.03)	0.036*	0.60 (0.04, 1.16)	0.035*
精子运动轨迹				
平均侧摆幅值(μm)	0.02 (0.01, 0.03)	0.001**	0.02 (0.01, 0.04)	0.002**
平均鞭打频率(Hz)	0.27 (0.02, 0.51)	0.036*	0.30 (0.02, 0.58)	0.035*
平均移动角度(°)	0.29 (0.09, 0.49)	0.005**	0.31 (0.08, 0.53)	0.008**
运动的直线性(%)	0.60 (0.25, 0.94)	0.001**	0.62 (0.24, 0.99)	0.002**
运动的摆动性(%)	0.48 (0.20, 0.75)	0.001**	0.49 (0.20,0.79)	0.002**
运动的前向性(%)	0.52 (0.20, 0.84)	0.002**	0.53 (0.19, 0.87)	0.003**

注：GSH 水平越高，表明抗氧化水平越高，氧化应激水平越低。

2.3　能量代谢与精子质量各参数的关系

研究能量代谢与精液质量各参数的关系，发现 ATP 水平与直线运动精子密度、精子活动力、运动速度和运动轨迹等多项参数存在相关性。ATP 水平每增加 1nmol/mg 蛋白，直线运动精子密度增加 4.34×10^6 /ml (95%CI: 1.99×10^6，6.68×10^6)，精子总活力升高 6.26% (95%CI：2.43%，10.10%) 、PR 升高 4.65 % (95%CI：1.41%，7.88%)，NP 升高 1.62 % (95%CI：0.65%，2.59%)。此外，ATP 水平每增加 1nmol/mg 蛋白，精子曲线速度增加 4.73 μm/s (95%CI：2.22，7.25)、直线速度增加 3.11 μm/s (95%CI：1.57，4.65)，平均路径速度增加 3.44 μm/s (95%CI：1.73，5.15)，同时，精子运动轨迹的各参数也发生了变化(表 4)。

表 4　精子 ATP 水平与精子浓度、活动力、运动速度和运动轨迹的关联

Table 4　Correlation between ATP level in sperm and sperm concentration, motility, movement velocity and trajectory

精子质量参数	粗模型		调整模型	
	β 和 95%CI	P 值	β 和 95%CI	P 值
精子密度				
精子密度(×10⁶/ml)	4.34 (-2.82, 11.49)	0.242	2.16 (-5.15, 9.46)	0.553
直线运动精子密度(×10⁶/ml)	4.62 (2.42, 6.83)	<0.001***	4.34 (1.99, 6.68)	<0.001***
精子活动力				
前向运动率(%)	4.22 (1.07, 7.36)	0.012*	4.65 (1.41, 7.88)	0.006**
非前向运动率(%)	1.74 (0.84, 2.64)	<0.001***	1.62 (0.65, 2.59)	0.002**
精子总活力(%)	5.96 (2.28, 9.64)	0.003**	6.26 (2.43, 10.10)	0.002**
精子运动速度				
曲线速度(μm/s)	4.57 (2.23, 6.91)	<0.001***	4.73 (2.22, 7.25)	<0.001***
直线速度(μm/s)	2.73 (1.21, 4.26)	0.001**	3.11 (1.57, 4.65)	<0.001***
平均路径速度(μm/s)	3.10 (1.44, 4.76)	<0.001***	3.44 (1.73, 5.15)	<0.001***
精子运动轨迹				

平均侧摆幅值(μm)	0.08 (0.00, 0.15)	0.049*	0.09 (0.02, 0.17)	0.019*
平均鞭打频率(Hz)	1.54 (0.71, 2.36)	<0.001***	1.71 (0.85, 2.56)	<0.001***
平均移动角度(°)	0.98 (0.25, 1.70)	0.012*	0.99 (0.23, 1.75)	0.013*
运动的直线性(%)	2.10 (0.07, 4.14)	0.049*	2.60 (0.45, 4.75)	0.019*
运动的摆动性(%)	1.69 (0.05, 3.33)	0.050	2.09 (0.35, 3.83)	0.019*
运动的前向性(%)	1.79 (0.11, 3.47)	0.042*	2.00 (0.14, 3.86)	0.036*

3　讨论

在本研究中，我们系统的探讨了氧化应激和能量代谢对男性精子质量多项参数的影响。与假设一致，精液中MDA、GSH 和 ATP 水平与精子活力、运动速度和精子轨迹多项参数存在显著关联。以往研究主要探究了氧化应激和能量代谢对男性精子密度和活动力的影响，本研究系统地分析了精液氧化应激和能量代谢水平与男性精子密度、活动力、运动速度和运动轨迹 10 多项参数之间的关联，提示可以通过应用降低氧化应激和提高能量代谢的补充剂改善男性精子质量，为促进男性生殖健康提供流行病学证据。

本研究表明，精液中的 MDA 和 GSH 水平与精子活力、运动速度以及轨迹改变存在关联。据我们所知，MDA 和 GSH 是氧化应激主要且研究最多的产物[18, 20]。MDA 是多不饱和脂肪酸过氧化最常见的产物之一，已被广泛用于评估氧化应激的水平[18]，并被认为是精浆脂质过氧化的直接指标[19]，较高水平的 MDA 代表严重的氧化应激水平。我们的结果表明，较高的 MDA 水平与较低的精子活动力、较低的精子运动速度和不良的轨迹改变相关，这证明了过高的氧化应激水平对男性生殖健康的不利影响。与我们的研究一致，一些研究报道了 MDA 与精子质量降低之间显著相关[19, 21, 22]。例如，一项由 346 名居住在波兰的男性组成的横断面研究发现，患有弱精子症的男性的 MDA 水平高于对照组 12%[21]。GSH 是保护脂质、蛋白质和核酸免受氧化损伤的非酶抗氧化防御系统的一部分[20]。GSH 水平越高，表明抗氧化水平越高，氧化应激状态越低，在一些研究中 GSH 也被用作生殖健康的重要生物标志物[23, 24]。例如，Atig 等人对 250 名成年男性开展的前瞻性研究发现健康男性的 GSH 水平显著高于不育患者组。此外，他们还指出，GSH 与精子总活力及精子浓度显著相关[24]。Atig 等人的研究结果表明，较高的 GSH 水平与较好的精子质量和较低的生育风险相关，这与我们的研究一致。综上所述，我们的研究证明，氧化应激对精子质量和男性生殖健康起着至关重要的作用。尽管氧化应激对精子质量的具体生物学机制尚不清楚，但不能忽视对精子染色质的破坏、精子膜的过氧化和导致精子细胞凋亡的增加[25, 26]。

ATP 是精子功能的主要供能物质[27-30]。ATP 水平越高越有利于精子产生足够的能量来克服女性生殖通道中的物理障碍，到达卵母细胞，并穿透其透明带[16]。我们的结果表明，较高的 ATP 水平与较高的精子活动力、较高的运动速度和轨迹正向变化相关，这表明能量代谢对男性精子质量有显著影响。与我们的研究一致，Shan Dan 等人收集 60 名正常精子者和 50 名弱精子症男性，发现弱精子症患者组 ATP 含量显著低于正常组 (234.74 ± 81.21 μmol/mg vs. 437.38 ± 142.54 μmol/mg)[31]。K.Jueraittibaike 等人开展了一项探讨维生素 D 对精子活动力影响的研究，发现 ATP 水平的升高与精子的前向运动率显著相关[16]。虽然 ATP 对精子质量产生影响的具体生物学机制尚不清楚，但已有一些实验表明，呼吸链复合体活性的下降[32]、线粒体膜电位的降低[33-35]、线粒体 DNA 的改变[36]以及活性氧[37, 38]对线粒体的损伤是关键机制。

据我们所知，本研究第一次系统地评估了氧化应激和能量代谢水平对精子密度、活动力、运动速度和轨迹等多项参数的影响，研究将为全面了解氧化应激和能量代谢对男性生殖健康的影响提供参考。然而，本研究也存在一定局限性。首先，受试者为医院生殖医学中心就诊的育龄男性，尽管选取孕前检查的初诊患者，但也不能完全排除伴有的生殖健康问题，这与健康人群之间存在一定偏差；其次，因为参加精子质量检查的门诊患者不愿透露更多私人信息，我们未能收集到研究对象职业、生育情况和详细生活习惯等信息，这导致研究中可能存在一些混杂因素。但我们调整了参与者的年龄、学历、BMI、吸烟、饮酒和精液量参数，调整模型的大多数结果与粗模型一致，这表明我们的结果是稳健的。第三，本研究只纳入了 67 份精液样本用于氧化应激检测，42 份精液样本用于能量代谢检测，未来需要开展基于更大样本量的研究来证实我们的发现。最后，本研究采用了横断面研究设计，无法进行因果关系推断，未来需要开展队列研究来验证本研究的发现。

4　结论

综上所述，本研究系统评估了氧化应激和能量代谢水平与精子活动力、运动速度和运动轨迹多项参数的影响，研究发现，较高的氧化应激水平与精子活动力越低、精子运动速度越慢以及运动轨迹越不利改变有关，而较高的 ATP 水平与男性精子活动力升高、运动速度加快以及运动轨迹发生有利改变有关。针对日益严重的男性生殖健康问题，本研究提示通过应用降低氧化应激和提高能量代谢的补充剂可改善男性精子质量，为男性生殖健康的精准干预、保障我国人口稳定提供科学依据。

作者贡献：赵晓龙负责病历资料的收集和整理，并撰写论文初稿；牛治平进行病历资料的整理和数据的分析；谭继东负责实验结果整理；韩东晖提出研究选题方向；杨发和温伟红负责论文的修订；王安辉和秦卫军负责文章的质量控制及审校，对文章整体负责；所有作者确认了论文的最终稿。

本文无利益冲突。

参考文献

[1]YANG W, XU Y, PAN H, et al. Chronic exposure to diesel exhaust particulate matter impairs meiotic progression during spermatogenesis in a mouse model[J]. Ecotoxicology and environmental safety, 2020, 202: 110881. DOI: 10.1016/j.ecoenv.2020.110881

[2]LEVINE H, JøRGENSEN N, MARTINO-ANDRADE A, et al. Temporal trends in sperm count: a systematic review and meta-regression analysis[J]. Human reproduction update, 2017, 23(6): 646-659. DOI: 10.1093/humupd/dmx022

[3]SUN S, ZHAO J, CAO W, et al. Identifying critical exposure windows for ambient air pollution and semen quality in Chinese men[J]. Environmental research, 2020, 189: 109894. DOI: 10.1016/j.envres.2020.109894

[4]NäTT D, KUGELBERG U, CASAS E, et al. Human sperm displays rapid responses to diet[J]. PLoS biology, 2019, 17(12): e3000559. DOI: 10.1371/journal.pbio.3000559

[5]KRAUSZ C, RIERA-ESCAMILLA A. Genetics of male infertility[J]. Nature reviews Urology, 2018, 15(6): 369-384. DOI: 10.1038/s41585-018-0003-3

[6]CENTOLA G M, BLANCHARD A, DEMICK J, et al. Decline in sperm count and motility in young adult men from 2003 to 2013: observations from a U.S. sperm bank[J]. Andrology, 2016, 4(2): 270-276. DOI: 10.1111/andr.12149

[7]CAO X, CUI Y, ZHANG X, et al. Proteomic profile of human spermatozoa in healthy and asthenozoospermic individuals[J]. Reproductive biology and endocrinology : RB&E, 2018, 16(1): 16. DOI: 10.1186/s12958-018-0334-1

[8]NOWICKA-BAUER K, NIXON B. Molecular Changes Induced by Oxidative Stress that Impair Human Sperm Motility[J]. Antioxidants (Basel, Switzerland), 2020, 9(2). DOI: 10.3390/antiox9020134

[9]IHSAN A U, KHAN F U, KHONGORZUL P, et al. Role of oxidative stress in pathology of chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome and male infertility and antioxidants function in ameliorating oxidative stress[J]. Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie, 2018, 106: 714-723. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.06.139

[10]PARK Y J, PANG M G. Mitochondrial Functionality in Male Fertility: From Spermatogenesis to Fertilization[J]. Antioxidants (Basel, Switzerland), 2021, 10(1). DOI: 10.3390/antiox10010098

[11]DUTTA S, MAJZOUB A, AGARWAL A. Oxidative stress and sperm function: A systematic review on evaluation and management[J]. Arab journal of urology, 2019, 17(2): 87-97. DOI: 10.1080/2090598x.2019.1599624

[12]AGARWAL A, TVRDA E, SHARMA R. Relationship amongst teratozoospermia, seminal oxidative stress and male infertility[J]. Reproductive biology and endocrinology : RB&E, 2014, 12: 45. DOI: 10.1186/1477-7827-12-45

[13]BISHT S, FAIQ M, TOLAHUNASE M, et al. Oxidative stress and male infertility[J]. Nature reviews Urology, 2017, 14(8): 470-485. DOI: 10.1038/nrurol.2017.69

[14]BARATI E, NIKZAD H, KARIMIAN M. Oxidative stress and male infertility: current knowledge of pathophysiology and role of antioxidant therapy in disease management[J]. Cellular and molecular life sciences : CMLS, 2020, 77(1): 93-113. DOI: 10.1007/s00018-019-03253-8

[15] FLECK D, KENZLER L, MUNDT N, et al. ATP activation of peritubular cells drives testicular sperm transport[J]. eLife, 2021, 10. DOI: 10.7554/eLife.62885

[16]JUERAITETIBAIKE K, DING Z, WANG D D, et al. The effect of vitamin D on sperm motility and the underlying mechanism[J]. Asian journal of andrology, 2019, 21(4): 400-407. DOI: 10.4103/aja.aja_105_18

[17]卢作维，刘涛，刘向阳，等 2 型糖尿病患者发生微量白蛋白尿预测模型的建立与验证研究 [J] 中国全科医学. 2021, 24(36): 4653-4660. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2021.02.057

LU Z W，LIU T，LIU X Y，et al. Construction and verification of a predictive model for microalbuminuriain type 2 diabetes mellitus patients［J］. Chinese General Practice，2021，24（36）：4653-4660. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2021.02.057

[18]DEL RIO D, STEWART A J, PELLEGRINI N. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress[J]. Nutrition, metabolism, and cardiovascular diseases : NMCD, 2005, 15(4): 316-328. DOI:

10.1016/j.numecd.2005.05.003
[19]JANNATIFAR R, PARIVAR K, ROODBARI N H, et al. Effects of N-acetyl-cysteine supplementation on sperm quality, chromatin integrity and level of oxidative stress in infertile men[J]. Reproductive biology and endocrinology : RB&E, 2019, 17(1): 24. DOI: 10.1186/s12958-019-0468-9
[20]ABDULLAH F, KHAN NOR-ASHIKIN M N, AGARWAL R, et al. Glutathione (GSH) improves sperm quality and testicular morphology in streptozotocin-induced diabetic mice[J]. Asian journal of andrology, 2021, 23(3): 281-287. DOI: 10.4103/aja.aja_81_20
[21]CHYRA-JACH D, KALETKA Z, DOBRAKOWSKI M, et al. The Associations between Infertility and Antioxidants, Proinflammatory Cytokines, and Chemokines[J]. Oxidative medicine and cellular longevity, 2018, 2018: 8354747. DOI: 10.1155/2018/8354747
[22]MADEJ D, GRANDA D, SICINSKA E, et al. Influence of Fruit and Vegetable Consumption on Antioxidant Status and Semen Quality: A Cross-Sectional Study in Adult Men[J]. Frontiers in nutrition, 2021, 8: 753843. DOI: 10.3389/fnut.2021.753843
[23]OU Z, WEN Q, DENG Y, et al. Cigarette smoking is associated with high level of ferroptosis in seminal plasma and affects semen quality[J]. Reproductive biology and endocrinology : RB&E, 2020, 18(1): 55. DOI: 10.1186/s12958-020-00615-x
[24]ATIG F, RAFFA M, HABIB B A, et al. Impact of seminal trace element and glutathione levels on semen quality of Tunisian infertile men[J]. BMC urology, 2012, 12: 6. DOI: 10.1186/1471-2490-12-6
[25]DU PLESSIS S S, AGARWAL A, HALABI J, et al. Contemporary evidence on the physiological role of reactive oxygen species in human sperm function[J]. Journal of assisted reproduction and genetics, 2015, 32(4): 509-520. DOI: 10.1007/s10815-014-0425-7
[26]AITKEN R J, BAKER M A, NIXON B. Are sperm capacitation and apoptosis the opposite ends of a continuum driven by oxidative stress?[J]. Asian journal of andrology, 2015, 17(4): 633-639. DOI: 10.4103/1008-682x.153850
[27]PEñA F J, RODRíGUEZ MARTíNEZ H, TAPIA J A, et al. Mitochondria in mammalian sperm physiology and pathology: a review[J]. Reproduction in domestic animals = Zuchthygiene, 2009, 44(2): 345-349. DOI: 10.1111/j.1439-0531.2008.01211.x
[28]YI Y J, SUTOVSKY M, KENNEDY C, et al. Identification of the inorganic pyrophosphate metabolizing, ATP substituting pathway in mammalian spermatozoa[J]. PloS one, 2012, 7(4): e34524. DOI: 10.1371/journal.pone.0034524
[29]TANG M, LIU B J, WANG S Q, et al. The role of mitochondrial aconitate (ACO2) in human sperm motility[J]. Systems biology in reproductive medicine, 2014, 60(5): 251-256. DOI: 10.3109/19396368.2014.915360
[30]SHAN D, ARHIN S K, ZHAO J, et al. Effects of SLIRP on Sperm Motility and Oxidative Stress[J]. BioMed research international, 2020, 2020: 9060356. DOI: 10.1155/2020/9060356
[31]BUCAK M N, ATAMAN M B, BAŞPıNAR N, et al. Lycopene and resveratrol improve post-thaw bull sperm parameters: sperm motility, mitochondrial activity and DNA integrity[J]. Andrologia, 2015, 47(5): 545-552. DOI: 10.1111/and.12301
[32]PAOLI D, GALLO M, RIZZO F, et al. Mitochondrial membrane potential profile and its correlation with increasing sperm motility[J]. Fertility and sterility, 2011, 95(7): 2315-2319. DOI: 10.1016/j.fertnstert.2011.03.059
[33] ZHU X, SHI D, LI X, et al. TLR signalling affects sperm mitochondrial function and motility via phosphatidylinositol 3-kinase and glycogen synthase kinase-3α[J]. Cellular signalling, 2016, 28(3): 148-156. DOI: 10.1016/j.cellsig.2015.12.002
[34]GUO H, GONG Y, HE B, et al. Relationships between mitochondrial DNA content, mitochondrial activity, and boar sperm motility[J]. Theriogenology, 2017, 87: 276-283. DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.09.005
[35]TALEBI E, KARIMIAN M, NIKZAD H. Association of sperm mitochondrial DNA deletions with male infertility in an Iranian population[J]. Mitochondrial DNA Part A, DNA mapping, sequencing, and analysis, 2018, 29(4): 615-623. DOI: 10.1080/24701394.2017.1331347
[36]AITKEN R J, WHITING S, DE IULIIS G N, et al. Electrophilic aldehydes generated by sperm metabolism activate mitochondrial reactive oxygen species generation and apoptosis by targeting succinate dehydrogenase[J]. The Journal of biological chemistry, 2012, 287(39): 33048-33060. DOI: 10.1074/jbc.M112.366690
[37]ARUOMA O I, GROOTVELD M, BAHORUN T. Free radicals in biology and medicine: from inflammation to biotechnology[J]. BioFactors (Oxford, England), 2006, 27(1-4): 1-3. DOI: 10.1002/biof.5520270101